

Zum Ursprung der Benzoesäure und ihrer Rolle im menschlichen Körper

von

Fereidoun Mackinejad

aus

Teheran/Iran

1972 ■ 284

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Zum Ursprung der Benzoesäure und ihrer Rolle im menschlichen Körper

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Fereidoun Mackinejad

aus

Teheran/Iran

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. G. Koch
Referent: Prof. Dr. Dr. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 4. 1972

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
A) EINLEITUNG	4
B) PROBLEMSTELLUNG	5
C) HAUPTTEIL	5
I. <u>Der Nachweis von Benzoesäure in biologischen Flüssigkeiten</u>	5
a) Papierchromatographischer Nachweis	6
b) Gelchromatographischer Nachweis	7
c) Gaschromatographischer Nachweis	9
II. <u>Die physiologische Zufuhr von Benzoesäure und von Stoffen, aus denen im Stoffwechsel Benzoesäure entstehen kann</u>	9
a) Die Zufuhr in der Pflanzennahrung	9
b) Die Aufnahme als Konservierungsstoff für Lebensmittel	10
c) Benzoesäure mit pharmakologischem Ursprung	13
III. <u>Toxikologie der Benzoesäure</u>	15
IV. <u>Ausscheidung von Benzoesäure</u>	19
D) ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	21
E) LITERATURVERZEICHNIS	23

A) EINLEITUNG

Der Name Benzoesäure



leitet sich vom Benzoeharz (Styrax Benzoicum) ab, in dem Blaise de Vigenère die Säure 1608 entdeckte.

Benzoesäure hat ein Molekulargewicht von 122,05, sie kristallisiert in weißen, glänzenden monoklinen Blättchen oder Nadeln, deren Schmelzpunkt 122,4° C beträgt. Die Löslichkeit der Benzoesäure in Wasser ist nicht besonders gut, es lösen sich bei 25° C in 100 g Wasser 0,34 g Benzoesäure, in organischen Lösungsmitteln ist sie teilweise sehr viel besser löslich; so lösen sich in 100 g Äther bei 25° C 40,8 g, in 100 g Chloroform 15,02 g, in 100 g Aceton 55,6 g und in Methanol (bei 23° C) 71,5 g Benzoesäure. Benzoesäure kann also aus wässrigen Lösungen leicht in organische Lösungsmittel extrahiert werden.

Die Benzoesäure ist gegen Luft und Oxydationsmittel weitgehend unempfindlich und ist daher häufig Endprodukt eines oxydativen Abbaus aromatischer Verbindungen.

Die technische Darstellung von Benzoesäure erfolgt auf verschiedenen Wegen aus Naphtalin oder Toluol (Schormüller und Grosch 1965).

B) PROBLEMSTELLUNG

Mit der Absicht, die Herkunft der Benzoesäure im menschlichen Organismus und ihr weiteres Schicksal, insbesondere ihre eventuelle Ausscheidung in unveränderter Form in Urin zu klären, wurde die Literatur der letzten Jahre zusammengestellt.

C) HAUPTTEIL

I. Der Nachweis von Benzoesäure in biologischen Flüssigkeiten

Das Problem beim qualitativen und quantitativen Nachweis der Benzoesäure ist, daß bei der Extraktion von Benzoesäure aus biologischen Flüssigkeiten eine Vielzahl von ähnlichen Verbindungen mit extrahiert wird, die ähnliche Eigenschaften haben und deswegen eine titrimetrische Untersuchungsweise, wie sie für eine Vielzahl von Lebensmitteln nach Extraktion angegeben wird (Diemair und Postel 1967) nicht angewendet werden kann. Es wurden

deswegen empfindliche chromatographische Untersuchungsmethoden entwickelt.

a) Papierchromatographischer Nachweis

Martin (1966) extrahiert Urin von Schafen nach Benzoesäurezufuhr bei einem pH-Wert von 2 - 3 sechs Stunden lang kontinuierlich mit Äther, verdampft den Äther und trennt den Extrakt auf einem Papierchromatogramm in einem Laufmittelgemisch aus n-Butanol-Ammoniak-Ammonium-Karbonat auf. Er besprüht die Chromatogramme mit Methylrotlösung von pH 7,0. Benzoesäure hat einen Rf-Wert von 0,41, Hippursäure einen solchen von 0,31.

Martin machte die Beobachtung, daß er eine größere Menge Benzoesäure erhielt, wenn er den Urin mit Äther bei 30° C extrahierte, als wenn er ihn mit Äthylacetat bei 20° C extrahierte. Als Ursache fand er heraus, daß die Extraktionstemperatur einen Einfluß auf die Menge an Benzoesäure hat in der Weise, daß eine höhere Temperatur zur Zersetzung von Hippursäure und damit zum Freiwerden von Benzoesäure führt. Dieser Effekt war bereits bei 30° C merkbar und bei 70° C konnten nur noch Spuren von Hippursäure nachgewiesen werden.

Die quantitative Bestimmung erfolgte relativ ungenau

durch die Bestimmung der extrahierten titrierbaren Säuren, von denen als Maß für die Menge an Hippursäure eine aus dem extrahierten Glycingehalt errechnete Säuremenge abgezogen wurde. So errechnete sich der Gehalt an Benzoesäure.

b) Gelchromatographischer Nachweis

Sinha und Gabrieli (1968) geben eine Übersicht über verschiedene Methoden, die sie in der Literatur der letzten 60 Jahre zur Bestimmung von Benzoesäure in biologischem Material fanden. Keine von diesen war eine brauchbare Mikromethode.

Nicholls (1928) oxydierte Benzoesäure mit Wasserstoffperoxyd zu Salicylsäure, die kolorimetrisch bestimmt wurde. Die Oxydation erfolgt jedoch nur zu ungefähr 10 % und das Verfahren ist deswegen für quantitative Fragestellungen unbrauchbar. Dickens und Pearson (1951) bestimmten kolorimetrisch in Mikromethoden Benzoesäure und Hippursäure in biologischen Materialien durch Nitrierung dieser Verbindungen bei Raumtemperatur. Dieses Vorgehen kostet Zeit und ist zu kompliziert für Routinemethoden im Kliniklaboratorium. Gaffney und Mitarb. (1954) berichten über eine papierchromatographische Abtrennung von Hippursäure aus Urin, aber dieses Verfahren ist zu zeitaufwendig für den Routinegebrauch.

Sinha und Gabrieli (1968) entwickelten deswegen eine eigene Methode, die sich zusammensetzt aus Gelfiltration und Spektrophotometrie. Die benutzte Säule bestand aus Dextran Gel (Sephadex G-10, Pharmacia Fine Chemicals), war 45 cm hoch bei einem Durchmesser von 1 cm. Das gewaschene Sephadex wurde mit 0,1 Phosphatpuffer pH 7,0 äquilibriert; der gleiche Puffer wurde für die Elution benutzt. Das Vorgehen war wie folgt: 1 ml des 1:5 verdünnten Urins wurde auf die Säule gegeben und mit dem Puffer ausgewaschen. Die ersten 30 ml des Eluates wurden verworfen, dann 35 ml in 1 ml-Portionen gesammelt. Jeder Anteil wurde mit dem Puffer auf 5 ml verdünnt und die Absorption bei 232 nm gegen den reinen Puffer gemessen. Zusatzversuche ergaben eine gute Trennung von Hippursäure, Benzoessäure, Harnsäure, Kreatinin und einigen Aminosäuren, während Glukuronsäure, Oxalsäure und Phenol in der Säule retiniert wurden. Hippursäure erschien unter den gewählten Bedingungen in der Eluatmenge von 32 - 45 ml, Benzoessäure daran anschließend in der Eluatmenge von 45 - 58 ml. Zusatzversuche, bei denen verschiedene Mengen von Benzoessäure und Hippursäure dem Urin zugesetzt wurden, ergaben eine Wiederfindungsrate zwischen 95,0 und 102 % für Benzoessäure.

c) Gaschromatographischer Nachweis

Perry und Mitarb. (1971) teilen ein gaschromatographisches Verfahren zur Identifizierung von Benzoesäure und Hippursäure mit. Urin wurde mit HCl auf pH 1,0 gebracht, fünf mal mit dem gleichen Volumen Äthylacetat extrahiert, die organische Phase mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mit einem Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde mit Methanol-Diäthyläther (1 : 9) gelöst und durch Umsetzen mit Diazomethan die Methylesterverbindungen gewonnen, die gaschromatographisch qualitativ und quantitativ bestimmt wurden.

II. Physiologische Zufuhr von Benzoesäure und von Stoffen, aus denen im Stoffwechsel Benzoesäure entstehen kann

a) Die Zufuhr in der Pflanzennahrung

Schon im letzten Jahrhundert bemerkte Wöhler, daß im Harn von Kälbern die Hippursäure, die Hauptausscheidungsform der Benzoesäure, so lange fehlte, als sie noch keine pflanzliche Nahrung genossen hatten (Gorup-Besanz 1878). Die Benzoesäure stammt zum größten Teil aus den aromatischen Pflanzenbestandteilen wie z.B.

Zimtsäure, Chinasäure und Vanillinsäure, die im tierischen Stoffwechsel zur Benzoesäure abgebaut werden. Bei gemischter Nahrung werden beim Menschen täglich etwa 0,5 bis 1 g Benzoesäure in Form von Hippursäure ausgeschieden (Flaschenträger 1957). Von großer Bedeutung für die Aufnahme von Benzoesäure ist die Umwandlung zugeführter Substanzen durch die Bakterienflora des Darmes, die über eine größere Möglichkeit, aromatische Verbindungen zu metabolisieren, verfügen. So kann z. B. aus Phenylalanin über Oxydationsreaktionen durch die Bakterienflora des Darmes Benzoesäure entstehen (Lehnartz 1948).

b) Die Aufnahme als Konservierungsstoff für Lebensmittel

Häufig erfolgt die Zufuhr von Benzoesäure oder ihrer Salze auch in Nahrungsmitteln, da Benzoesäure eine antimikrobielle Wirkung gegenüber Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen hat und so als Konservierungsmittel dienen kann. Diese Wirkung ist stark vom pH-Wert des Substrates abhängig, da nur die freie undissoziierte Säure wirksam ist (es sind bei pH 2 etwa 99,3 % der Benzoesäure undissoziiert, bei pH 5 nur noch 13,4 % und bei pH 7 nur noch 0,15 %). Während bei pH 3,5 eine Lösung von 1 g Benzoesäure in 800 ml Lösung eine bakterizide Wirkung auf *Escherichia Coli* hatte, war bei pH 6 bereits eine 80-fach

höhere Konzentration zur Erzielung der gleichen Wirksamkeit erforderlich. Durch die Anwesenheit von Eiweiß wird die antimikrobielle Wirksamkeit von Benzoesäure herabgesetzt, durch die Gegenwart anorganischer Salze wird sie dagegen gesteigert, in sauren Medien verhindern 0,25 % Benzoesäure die Gärung. Zur Abtötung von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen werden Konzentrationen von mehr als 0,07 % benötigt (Diemair und Postel 1965).

Eine Kumulierung der Benzoesäure im menschlichen Organismus tritt nicht ein, sie hat kaum toxikologische Bedeutung. Die Benzoesäure wurde von der Internationalen Union gegen den Krebs in Liste A (Stoffe, die aufgrund von Tierversuchen als wahrscheinlich ungiftig und nicht cancerogen angesehen werden können und die daher vorläufig als zulässig für die menschliche Ernährung gelten können), von der Expertenkommission für Lebensmittelzusätze der Westeuropäischen Union in Liste 2 (Stoffe, die beim Gebrauch innerhalb bestimmter Grenzen als ungefährlich für die Gesundheit zu erachten sind) eingereiht (Souci und Mergenthaler 1958).

Die Benzoesäure und ihr Natriumsalz finden zur Konservierung von Lebensmitteln ausgedehnte Verwendung. Sie eignen sich sehr gut zur Haltbarmachung von sauren Substraten wie Fruchtsäfte und deren Grundstoffe, Obst-

muttersäfte, Getränke, Sauergemüse-Konserven, Marmeladen und ähnliche Obst- und Gemüseerzeugnisse. Auch zur Konservierung von Fischerzeugnissen, Eidauerwaren, Mayonnaise, Fleischsalat, Aspik, Margarine, Speisesenf, Marzipan und marzipanähnliche Erzeugnisse wird Benzoesäure angewandt. Die Dosierung beträgt im allgemeinen etwa 0,1 bis 0,4 %. Die gemeinsame Anwendung von Benzoesäure und Ameisensäure oder Benzoesäure und Zitronensäure erwies sich als günstiger als die der einzelnen Bestandteile für sich. Eis mit 0,16 % Benzoesäure eignet sich gut zur Fischkonservierung. Calciumbenzoat verhindert das Fadenziehen bei Brot und Gebäck. Zur Sterilhaltung von ungesalzenem Eigelb werden 1,2 % Benzoesäure oder mehr als 2,5 % Natriumbenzoat benötigt.

Benzoesäure und Natriumbenzoat sind in zahlreichen Staaten zur Konservierung gewisser Lebensmittel zugelassen oder geduldet, mit überraschenden Diskrepanzen. So sind sie in der Südafrikanischen Union neben der schwefligen Säure das einzige zugelassene Konservierungsmittel, während sie in Frankreich ausschließlich für die Konservierung von Kaviar zugelassen sind. In der Bundesrepublik Deutschland wurden sie durch die Konservierungsstoffverordnung vom 19.12.1959 als Zusatz zu einer Reihe von Lebensmitteln bzw. Lebensmittelgruppen zugelassen. (Diemair und Postel 1967).

Lee und Mitarb. (1965) führten Versuche durch, um mit Hilfe von Natriumbenzoat und Dauerbestrahlung das Verderben von Fisch bei 4° C zu verlangsamen. Sie versetzten den Fisch mit 0,1 % Natriumbenzoat, das für sich allein nur eine geringe Wirkung hatte. Eine Bestrahlung mit 0,1 mrad durch Kobalt zögerte den verstärkten Befall mit Bakterien um 10 Tage hinaus. Eine Bestrahlung mit 0,5 mrad steigerte die Haltbarkeit auf 27 Tage, 18 Tage länger als die nur mit Benzoat behandelte Probe.

c) Benzoessäure mit pharmakologischem Ursprung

Benzoessäure kann auch in Medikamenten enthalten sein, oder aus diesen entstehen. Winstead und Mitarb. (1969) verwenden radioaktiv markiertes Natrium-Benzoeat zum Sichtbarmachen der Niere. Die radioaktive Markierung erfolgt durch Kohlenstoff 11, ein Radionuklid, das Positronen mit einer Halbwertszeit von 20,4 Minuten aussendet. Der schnelle Zerfall ermöglicht die Verabreichung verhältnismäßig großer Mengen von C-11 markierten Verbindungen mit einer kleinen Strahlendosis für den Patienten. Die Abgabe von Positronen durch den Kohlenstoff 11 ergibt eine gute Differenzierung bei der Bestimmung seiner Lokalisation im Körper infolge der hohen Auflösung der Positronenkamera beim

Sichtbarmachen der Quelle der Zerstrahlung. Das Verfahren zur Herstellung von C-11-markiertem Natriumbenzoat wird beschrieben. Es wird über ein Experiment berichtet, in dem eine Nierenverletzung durch Elektrokaustik bei einem Hund gesetzt wurde. Die Bilder der Positronenkamera von der Niere nach Infusion von C-11-Natriumbenzoat zeigten eine klare Darstellung der Nierenverletzung. Die Darstellung der Niere mit 203 Hg -Chlormerodrin oder 131 J -Hippurat ergab weniger klare Ergebnisse als die Verwendung von ^{11}C -Benzoat. Zusätzlich zeigten die C-11-Positrontomogramme viel bessere morphologische Details des Nierenbeckens, als sie mit einer großen Menge von 131 J Hippursäure erreicht werden konnte. Die Autoren machen eine Einschränkung hinsichtlich der Brauchbarkeit dieser Methode beim Menschen. Während bei Hunden $3/4$ des zugeführten Benzoats in der Niere mit Glukuronsäure gekoppelt wird, erfolgt die Konjugation des Benzoats mit Glycin zu Hippursäure beim Menschen vorwiegend in der Leber. Das werde beim Menschen zu anderen Ergebnissen als beim Hund führen, mache die Substanz aber andererseits vielleicht geeignet für die Darstellung des Leberparenchyms.

Von besonderem Interesse sind Medikamente die im Körper zu Benzoessäure umgewandelt werden. Dies trifft z.B. für das Stilben (1,2-Diphenyläthylen) zu. Wenn Stilben

Kaninchen injiziert wird, entsteht als sein Hauptmetabolit Benzoesäure, das ungefähr einem Drittel der zugeführten Dosis entspricht (Williams 1959).

III. Toxikologie der Benzoesäure

Während, wie oben angeführt, von einigen Autoren angegeben wird, daß Benzoesäure keine toxikologische Wirkung habe (Souci und Mergenthaler 1958) berichten andere Autoren über Vergiftungserscheinungen bei Tieren, denen Benzoesäure verabreicht wurde. So gaben Kreis und Mitarb. (1967) Ratten Benzoesäure im Futter, um insbesondere zu prüfen, ob auch geringe Benzoesäuremengen zu Schädigungen führen, ob kurzfristige Benzoesäuregaben über die Applikationsdauer zeitlich hinausgehende Schäden verursachen können und ob nach oraler Aufnahme toxisch wirkender Benzoesäuredosen auch morphologische Organveränderungen nachweisbar sind. Als Versuchstiere dienten wachsende männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von ca. 60 Gramm. Das Versuchsfutter bestand aus einer halbsynthetischen Kost. Trinkwasser und Futter wurden ad libitum verabreicht. Während der ganzen Versuchsdauer erfolgten wöchentlich zwei Gewichtsbestimmungen. Es wurde ein Versuchsplan

entwickelt, bei dem die Ratten in vier Gruppen eingeteilt waren, eine Kontrollgruppe, eine Gruppe, denen 1,1 % Benzoessäure über einen Zeitraum von 7 - 35 Tagen zugeführt wurde, eine weitere Gruppe, denen 3 % Benzoessäure über 5 Tage zugeführt wurde und eine Gruppe von Tieren, denen Benzoessäure in einer Menge von 3 % im Futter über eine Zeit von 1 - 5 Tagen zugeführt wurde. Bei 3 % Benzoessäure im Versuchsfutter sterben erfahrungsgemäß die Tiere schon nach wenigen Tagen. Um festzustellen, nach welcher Applikationsdauer Organschäden bei 3 % Benzoessäure im Futter erstmalig auftreten, wurden Gruppen von diesen Tieren in bestimmten Zeitabständen untersucht.

Kreis und Mitarb. konnten die Ergebnisse von Kiekebusch und Lang (1960) bestätigen, die ebenfalls bei einer Futterbeigabe von 0,5 bzw. 1 % Benzoessäure während 16 Wochen keine histologischen Veränderungen der Rattenorgane festgestellt hatten. Bei der Gruppe, die 1,1 % Benzoessäure im Futter über einen Zeitraum von 7 - 35 Tagen erhalten hatte, konnten ebenfalls keine spezifischen pathologischen Veränderungen festgestellt werden. Darüberhinaus zeigten die Untersuchungen, daß auch bei peroraler Applikation von 3 % Benzoessäure spezifische histologische Veränderungen an Herz, Leber und Nieren der Ratten nicht zu beobachten sind. Dagegen konnten bei diesen Tieren deutliche Schädigungen des Hirnparenchyms fest-

gestellt werden. Sie bestanden im wesentlichen in Ganglienzellveränderungen, die aufgrund ihres morphologischen Bildes als ischämische Ganglienzellnekrosen gedeutet werden können, ohne daß die Glia geschädigt war. Diese Art der Parenchymnekrose stellt eine Gewebeschädigung dar, die vor allem nach akutem temporärem Sauerstoffmangel auftritt. Die Ursache dieser Gewebsschädigung dürfte nach Untersuchungen von Lang (1960) nicht in einer spezifischen Hemmung von Fermenten oder biochemischen Prozessen durch Benzoesäure liegen, sondern darin, daß Benzoesäure Krämpfe verursacht. Krämpfe waren auch das charakteristische klinische Symptom bei den von den Autoren vergifteten Ratten. Die Hirnveränderungen blieben bestehen, auch wenn nach 5-tägiger Zufuhr von 3 % Benzoesäure 19 bzw. 30 Tage lang eine benzoessäurefreie Ernährung verabfolgt wurde.

Die Ratten der Gruppe, die 1,1 % Benzoesäure erhalten hatten, zeigten zwar keine so eindeutigen Vergiftungserscheinungen, doch wiesen sie eine signifikant schlechtere Gewichtszunahme und Futterwirkung als die Kontrollgruppe auf. Das bestätigte die Ergebnisse von Hötzl (1962) der nach 1 g Benzoesäure pro Kilogramm Körpergewicht bei Ratten eine Wachstumsdepression festgestellt hatte, während Kiekebusch und Lang (1960) bei 1 % Benzoesäure im Futter keine nachteiligen Wirkungen beobach-

teten. Eine Dosierung von 1 % dürfte also nahe an der oberen Grenze der Verträglichkeit liegen, wie die Ergebnisse und Untersuchungen anderer Autoren zeigen. Eben solche Übereinstimmung bestehe bei der Feststellung, daß eine etwa 1 %ige Benzoesäuregabe noch nicht zu einer Verhaltensänderung, auch nicht zu histologisch feststellbaren Organschäden führt.

Martin (1966) führte im Rahmen seiner Studien über den Metabolismus von Benzoesäure auch Untersuchungen zur Toxizität der Benzoesäure durch. Er gab einem Schaf (7 Jahre alt, 75 kg schwer) eine Infusion von insgesamt 79,7 g Benzoesäure in 24 Stunden. Bereits 6 Stunden nach Beginn der Infusion verweigerte das Schaf das Fressen, am 2. Tag entwickelten sich eine schwere Muskelschwäche und Tremor; die Atmung war beschleunigt; am 3. Tag starb das Schaf. Die Autopsie ergab eine leichte Blutfülle im Abdomenbereich und eine Fettleber. Ein anderes Schaf (5 Jahre alt, 47 kg schwer) erhielt 9,6 g, 22,4 g und 54 g Benzoesäure jeweils in Intervallen von 24 Stunden durch Infusion und zeigte keine Vergiftungserscheinungen. Als dann 88 g Benzoesäure wiederum innerhalb von 24 Stunden infundiert wurden, fraß das Schaf noch nach 6 Stunden, aber 20 Stunden nach Beginn der Infusion verweigerte es das Futter und starb in der 24. Stunde. Schwere Muskelkrämpfe und Koordinationsstörungen wurden beobachtet.

Man kann also sagen, daß Benzoesäure nicht ungiftig ist, daß aber die Menge, die der Mensch bei normaler Ernährung insbesondere auch mit konservierten Nahrungsmitteln zu sich nimmt, nicht schädigen kann.

IV. Die Ausscheidung von Benzoesäure

Benzoesäure wird beim Menschen zum Überwiegenden Teil in der Leber mit Glycin gekoppelt und als Hippursäure im Urin ausgeschieden. Dieser Vorgang war lange ein Paradestück der bekannten Entgiftungsvorgänge im Körper. Als Erklärung für die Art der Entgiftungsvorgänge durch Konjugation nimmt man an, daß die durch die Koppelung der Verbindung mit einem hydrophilem Stoff verursachte wesentlich größere Wasserlöslichkeit zu einer leichteren Ausscheidung der Substanzen im Urin führt, wohingegen die Ausgangsverbindungen, so auch die Benzoesäure, relativ gut lipidlöslich sind und aus diesem Grund im wässrigen Medium, Plasma oder Urin nur gering zur Lösung und damit zur Ausscheidung gebracht werden können. Nach oraler Gabe von 10 - 15 g Benzoesäure als Natriumsalz scheidet der Mensch 90 % als Hippursäure aus. Freie Benzoesäure wird vom Magen-Darm-Kanal aus nur langsam resorbiert und gelangt nur als Hippursäure in den Harn,

dagegen wird Natriumbenzoat rasch aufgenommen und teils als Hippursäure, teils als Benzoylglukuronid ausgeschieden.

Während Personen mit gesunder Leber Benzoessäure (5 g) völlig zu Hippursäure entgiften, scheiden solche mit schwerer Leberschädigung einen großen Teil in Form des Glukuronides aus (Forst und Sachse 1966).

Tierversuche geben kaum weitere Aufschlüsse auf den menschlichen Stoffwechsel. So wird (Winstead und Mitarb. 1969) beim Hund ein Großteil der zugeführten Benzoessäure in der Niere mit Glukuronsäure gekoppelt, während beim Schaf (Martin 1966) bei toxischen Mengen von Benzoessäure der im Urin als Hippursäure ausgeschiedene Anteil mit Zunahme der Menge sinkt - von 73,2 auf 31,3 %, während andererseits sonstige Benzoessäureverbindungen von 25,6 auf 53,6 % anstiegen.

Perry und Mitarb (1971) konnten bei 3 schizophrenen Patienten freie Benzoessäure im Urin nachweisen. Ihre Ausscheidung schwankte zwischen 0,00 mg und 0,74 mg je mg Kreatinin im Urin. Dabei schien sich die Schwere der Krankheit in dem Maße zu vermindern, wie die Ausscheidung der Benzoessäure aufhörte.

D) DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Das Problem des qualitativen Nachweises und der quantitativen Bestimmung von Benzoesäure in biologischem Material ist heute durch moderne Untersuchungsmethoden wie z.B. die Papierchromatographie, Gelchromatographie sowie den Gaschromatographischen Nachweis weitgehend gelöst. Dadurch sind wir heute in der Lage, zuverlässige Aussagen über die Zufuhr von Benzoesäure oder von Benzoesäurevorstufen sowie deren Schicksal im menschlichen Organismus zu machen. Ein wesentlicher Anteil der im Körper frei werdenden Benzoesäuren stammt aus der pflanzlichen Nahrung. Ein weiterer Teil ist auf die Zufügung von Benzoesäure zu Nahrungsmitteln als Konservierungsstoff zurückzuführen. Auch in der Bundesrepublik Deutschland ist dies durch die Konservierungsstoffverordnung vom 19.12.1959 in bestimmtem Umfang zulässig.

Benzoesäurederivate können auch in Form von Medikamenten zugeführt werden, die dann im Stoffwechsel Benzoesäure bilden. Zum Teil wird auch radioaktiv markiertes Benzoat zum Sichtbarmachen von Organen verwendet.

Über die Toxikologie der Benzoesäure liegen hauptsächlich Tierversuche vor. Danach führen höhere Gaben von Benzoesäure zu Krämpfen mit entsprechenden histologisch faßbaren Veränderungen im Gehirn. Diese Schädigung tritt

allerdings erst nach Zufuhr relativ großer Mengen auf.

Benzoessäure wird beim Menschen zum überwiegenden Teil in der Leber mit Glyzin gekoppelt und als Hippursäure ausgeschieden. Ein geringer Anteil gelangt als Glukuronid in den Urin. Während Personen mit gesunder Leber 5 g Benzoessäure völlig zu Hippursäure entgiften, scheiden solche mit schwerer Leberschädigung einen großen Teil der Dosis nicht als Glyzinkonjugat, sondern in Form des Glukuronides aus.

Interessant ist eine Beobachtung von Perry und Mitarb. (1971), die bei schizophrenen Patienten im Gegensatz zu Gesunden freie Benzoessäure im Urin nachweisen konnten. Die Schwere der Krankheit schien sich in dem Maße zu vermindern wie die Ausscheidung der Benzoessäure zurückging.

Insgesamt fanden sich in der Literatur der letzten Jahre nur relativ wenige Arbeiten, die sich mit der Benzoessäure befaßten. Gerade im Hinblick auf die zuletzt erwähnte Arbeit erscheint es jedoch von Interesse, der Benzoessäure und ihrer Ausscheidung in freier Form im menschlichen Urin mehr Aufmerksamkeit zu schenken, insbesondere da heute empfindliche und zuverlässige Analyseverfahren zur Verfügung stehen.

E) LITERATURVERZEICHNIS

1. DIEMAIR, W. und W. POSTEL:
Chemische Zusatzstoffe. A: Konservierungsstoffe.
in: Handbuch der Lebensmittelchemie, I. Band
Hrsg.: W. Diemair
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1965)
2. DIEMAIR, W. und W. POSTEL:
Fremde Stoffe - Konservierungsstoffe.
in: Handbuch der Lebensmittelchemie, II. Band, 2. Teil
Hrsg.: W. Diemair
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1967)
3. DICKENS, F. und J. PEARSON:
The micro-estimation of benzoic and hippuric acids
in biological material.
Biochem. J. 48, 216 (1951)
4. FLASCHENTRÄGER, B.:
Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch.
2. Teil, S. 146, 103
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1957)
5. FORST, A.W. und G. SACHSE:
VII. Abwehrreaktionen. 2. Entgiftung.
in: Physiologische Chemie, II. Band, Teil 2 d/d
Hrsg.: B. Flaschenträger und E. Lehnartz
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1966)
6. GAFFNEY, G.W., K. SCHREUR, N. FERRANTE und K. ALTMAN:
The quantitative determination of hippuric acid.
J. Biol. Chem. 206, 695 (1954)

7. GORUP-BESANZ, E.F. von:
Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
4. Auflage, S. 263
Vieweg Braunschweig (1878)
8. HÖTZEL, D.:
Einfluß suboptimaler Versorgung mit B-Vitaminen
auf die Belastungsfähigkeit des Stoffwechsels.
Schriftenreihe des Instituts für Ernährungs-
wissenschaft der Justus-Liebig-Universität
Gießen (1962)
zit. Kreis und Mitarb. 1967
9. KIECKEBUSCH, W. und K. LANG:
Die Verträglichkeit der Benzoesäure im chronischen
Fütterungsversuch.
Arzneimittelforschung 10, 1001 (1960)
10. KREIS, H., K. FRESE und G. WILMES:
Physiologische und morphologische Veränderungen
an Ratten nach peroraler Verabreichung von
Benzoesäure.
Fd. Cosmet. Toxicol. 5, 505 (1967)
11. LANG, K.:
Verträglichkeit der Benzoesäure.
Z. Lebensmittelunters. und Forsch. 112, 394 (1960)
12. LEE, J.S., M.A. SHIFLETT und R.O. SINNHUBER:
Radiation pasteurization of seafood - I. The
combined effect of sodium benzoate and irradiation
for retarding microbial growth in Dover Sole
(Microstomus pacificus)
Int. J. of Appl. Radiat. and Isotopes 16, 221 (1965)

13. LEHNARTZ, E.:
Chemische Physiologie.
8. Auflage, S. 324, 361
Springer Verlag Berlin-Heidelberg (1948)
14. MARTIN, A.K.
Metabolism of benzoic acid by sheep.
J. Sci. Fd. Agric. 17, 496 (1966)
15. NICHOLLS, J.R.
Analyst 53, 19 (1928)
zit. Sinha und Gabrieli (1968)
16. PERRY, T.L., S. HANSEN, S. DIAMOND, S.B. MELANCON,
und D. LESK:
Acetic and benzoic acids in the urine of patients
with chronic schizophrenia.
Clin. Chim. Acta 31, 181 (1971)
17. SCHORMÜLLER, J. und W. GROSCH:
Carbonsäuren, Ester, Carbonylverbindungen und
seltener vorkommende Alkohole.
in: Handbuch der Lebensmittelchemie. I. Band
Hrsg.: J. Schörmüller
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1965)
18. SINHA, S.N. und E.R. GABRIELI:
A simple method for simultaneous determination
of benzoic and hippuric acids in biological fluids.
Clin. Chim. Acta 19, 313 (1968)

19. SOUCI, S.W. und E. MERGENTHALER:
Fremdstoffe in Lebensmitteln.
Bergmann München (1958)
20. WINSTEAD, M.B., H.S. WINCHELL und R. FAWWAZ:
The use of sodium ¹⁴C-benzoate in renal visualization.
Int. J. of Appl. Radiat. and Isotopes 20, 859 (1969)
21. WILLIAMS, R.T.:
Detoxication Mechanisms.
2nd ed.
Chapman and Hall, London (1959)

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut, für Rat-schläge bei der Abfassung der Arbeit und die Übernahme des Korreferates.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, ihre große Hilfsbereitschaft und den jederzeit so freundlich erteilten Rat.

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1937 wurde ich, Fereidoun Mackinejad, als Sohn des Ingenieurs Taghi Mackinejad und seiner Ehefrau Fatimah geb. Mackinejad in Teheran (Iran) geboren.

Das Grundschulstudium begann ich im Herbst 1944 in Teheran. Nach 6 Jahren Grundschule und 6 Jahren Oberschule bestand ich im Juni 1956 das Abitur an der Hadof-Oberschule in Teheran und im Sommer desselben Jahres die Zulassungsprüfung an der medizinischen Fakultät der Teheraner Universität. Ich studierte dort 2 Jahre und meldete mich im Herbst 1957 zu einer Prüfung des iranischen Staatsministeriums für Unterricht und Kultur. Im Sommer 1958 ging ich nach den U.S.A. und studierte dort 4 Jahre. Ich schloß mein Studium mit dem Diplom eines Bachelors of Science in Public Health ab. Für die Wiederaufnahme meines Studiums wählte ich eine Universität in der Bundesrepublik Deutschland. Ich studierte an den Universitäten Frankfurt/Main und Würzburg. Im April 1966 habe ich das Physikum in Frankfurt und im April 1970 das Staatsexamen in Erlangen bestanden. Im Anschluß daran habe ich meine Medizinalassistentenzeit abgeleistet.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990